

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07H 19/23

C07C243/14 C07C241/02

C07C281/04

//A61K31/7052, A61P35/00,

A61P43/00



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 01804884.6

[45] 授权公告日 2005 年 1 月 19 日

[11] 授权公告号 CN 1185247C

[22] 申请日 2001.2.22 [21] 申请号 01804884.6

[30] 优先权

[32] 2000. 2. 24 [33] JP [31] 48140/2000

[86] 国际申请 PCT/JP2001/001289 2001.2.22

[87] 国际公布 WO2001/062769 日 2001.8.30

[85] 进入国家阶段日期 2002.8.12

[71] 专利权人 万有制药株式会社

地址 日本东京都

[72] 发明人 平贺彰一 川崎雅史 赤尾淳史

镰谷朝之 荻原正幸 中野文雄

间濑俊明

审查员 欧 存

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责
任公司

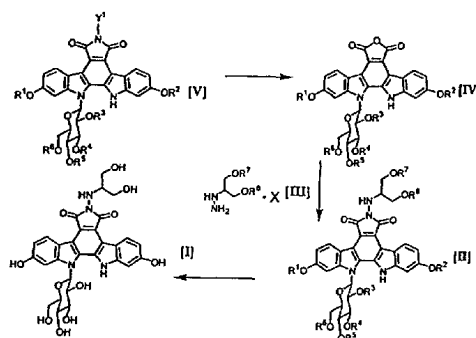
代理人 丁业平 林 潮

权利要求书 4 页 说明书 38 页

[54] 发明名称 吲哚吡咯并呋唑衍生物的制备方法、制备中的中间体以及制备中间体的方法

[57] 摘要

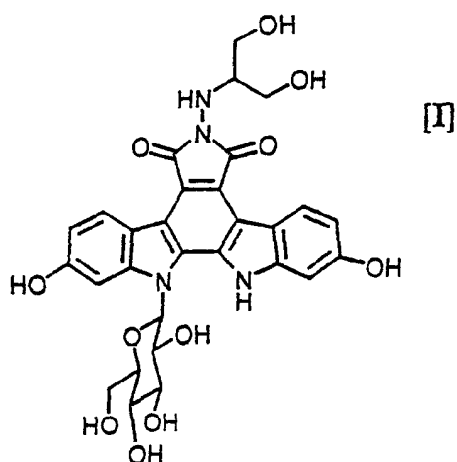
本发明涉及一种制备吲哚吡咯并呋唑衍生物 [I] 的方法, 该方法通过用碱在惰性溶剂中处理化合物 [V] 制备化合物 [IV], 所得的化合物 [IV] 与化合物 [III] 反应制备化合物 [II], 并且随后脱除化合物 [II] 的保护基; 本发明还涉及中间体 [II]、[III] 和 [IV] 以及制备化合物 [III] 的方法: [其中 Y¹ 是氢、C₁₋₄ 烷基、苯基、苄氧基甲基或芳烷基; R¹、R²、R³、R⁴、R⁵ 和 R⁶ 分别表示羟基的保护基; R⁷ 和 R⁸ 分别是氢或羟基保护基; X 是酸分子]。上述方法是制备用作抗肿瘤药的吲哚吡咯并呋唑衍生物 [I] 的一种安全且容易的工业方法。



1. 一种制备式[I]所示的吲哚吡咯并呋唑衍生物的方法：

5

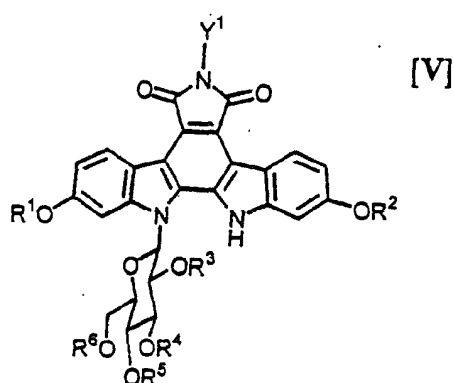
10



15

其包括通过用碱在惰性溶剂中处理通式[V]所示的化合物获得通式[IV]所示的化合物：

20



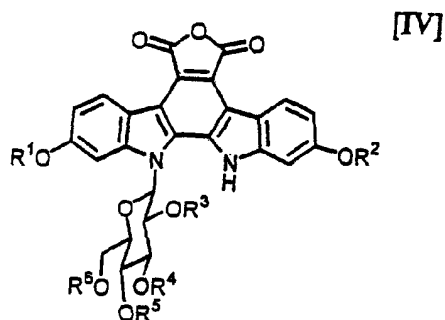
25

其中 Y¹ 表示氢原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、苯基、苄氧基甲基或芳烷基，R¹、R²、R³、R⁴、R⁵ 和 R⁶ 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基；

其中通式[II]表示的化合物的制备是通过通式[IV]所示化合物：

30

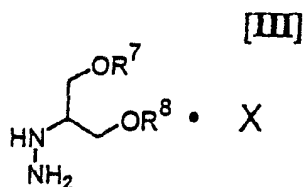
5



10

其中 R¹、R²、R³、R⁴、R⁵ 和 R⁶ 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基，在酸俘获剂存在的条件下与通式[III]所示的胍二醇衍生物酸加成盐反应制得：

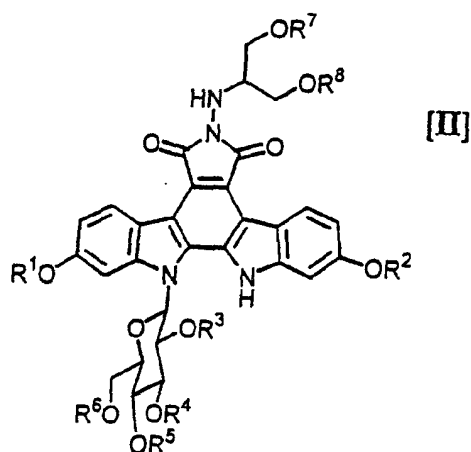
15



其中 X 表示酸分子，R⁷ 和 R⁸ 可以相同或不同且分别表示氢原子或羟基的保护基；

所述的方法还包括脱去通式[II]所示化合物的保护基：

20



25

其中 R¹、R²、R³、R⁴、R⁵ 和 R⁶ 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基，R⁷ 和 R⁸ 可以相同或不同且表示氢原子或羟基的保护基。

30

2. 按照权利要求 1 的方法, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 是苄基。

5 3. 按照权利要求 1 的方法, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 是苄基并且 R^7 和 R^8 是氢原子。

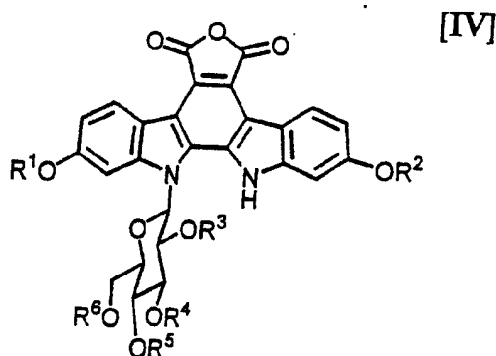
4. 按照权利要求 1 至 3 任一项的方法, 其中 X 是草酸。

10 5. 按照权利要求 1 到 3 中任一项的方法, 其中 Y^1 是甲基。

6. 按照权利要求 4 的方法, 其中 Y^1 是甲基。

7. 通式[IV]所示的化合物:

15



20

其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基。

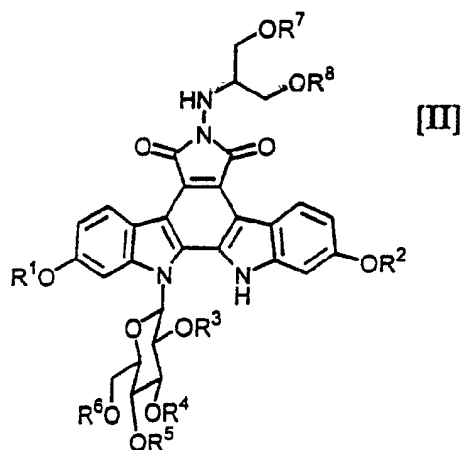
25

8. 按照权利要求 7 的化合物, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 是苄基。

9. 通式[II]所示的化合物:

30

5



10

其中 R¹、R²、R³、R⁴、R⁵ 和 R⁶ 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基，R⁷ 和 R⁸ 可以相同或不同且分别表示氢原子或羟基的保护基。

15

10. 按照权利要求 9 的化合物，其中 R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷ 和 R⁸ 是苄基。

11. 按照权利要求 9 的化合物，其中 R¹、R²、R³、R⁴、R⁵ 和 R⁶ 是苄基，R⁷ 和 R⁸ 是氢原子。

吡啶并咪唑衍生物的制备方法、制备中的中间体
以及制备中间体的方法

5

技术领域

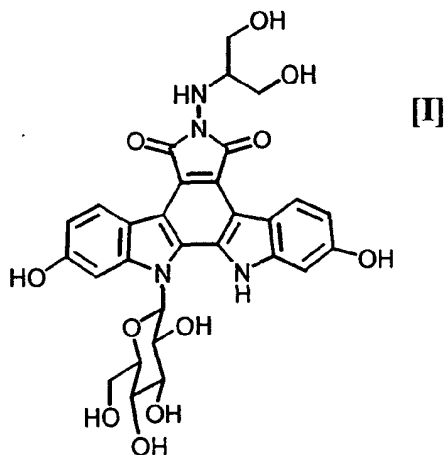
本发明属于医药领域的有用发明。具体而言，本发明涉及制备医药领域中的有效化合物的工业适用方法，和该制备方法中所必需的新的制备中间体以及这些中间体的制备方法。

10

背景技术

通过本发明的制备方法制备的由式[I]表示的吡啶并咪唑衍生物：

15



20

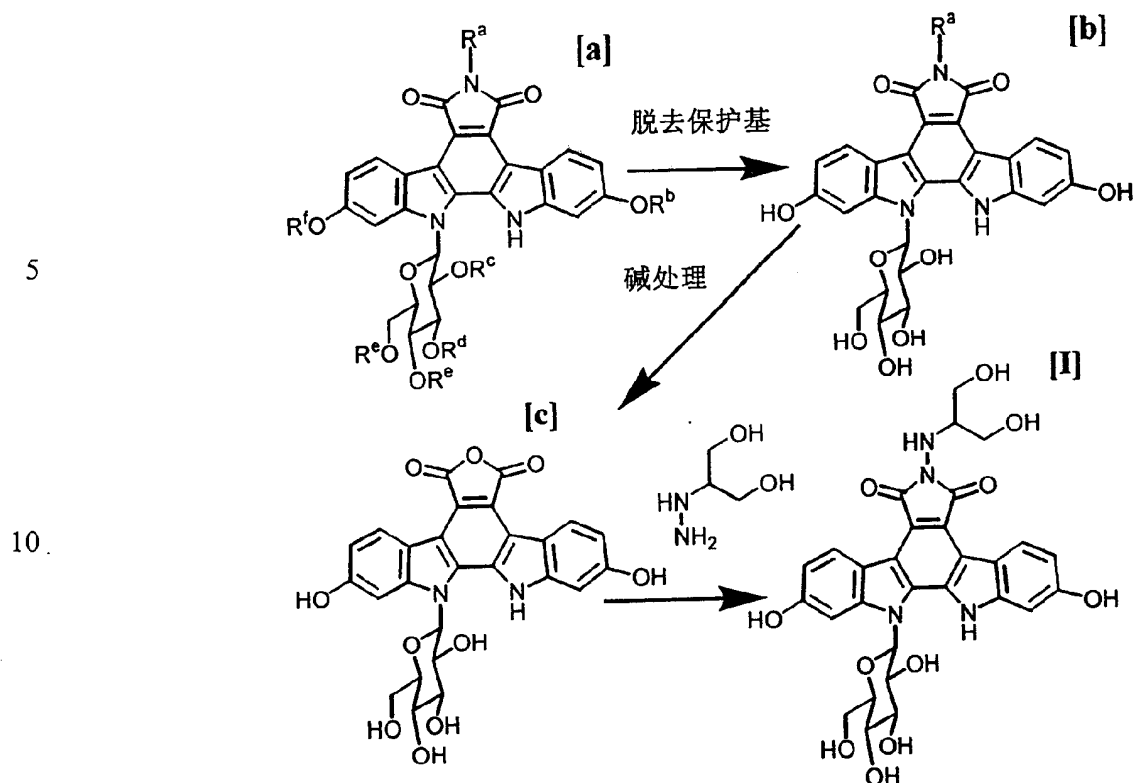
是具有制癌活性且目前处于临床试验中的化合物(Mitsuru Ohkubo 等，生物有机和医化学通报(Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters) 9 卷，3307-3312 页(1999))。

25

有关该化合物的一种制备方法，业已公开在 WO 95/30682 中。

30

本发明的目的在于避免了 WO95/30682 所公开的方法作为工业制备方法的不利缺点。也就是说，本发明的目的在于省略了 WO95/30682 中所公开的制备方法中的下列处理高生理活性化合物的步骤(化合物[b]和[c]的制备步骤)。



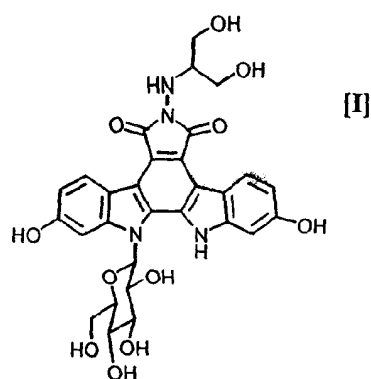
在上文中， R^a 表示氢原子、低级烷基、苄氧基甲基或芳烷基， R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^e 和 R^f 分别表示羟基的保护基，例如苄基、甲基、对甲氧基苄基或苄氧基甲基。

发明内容

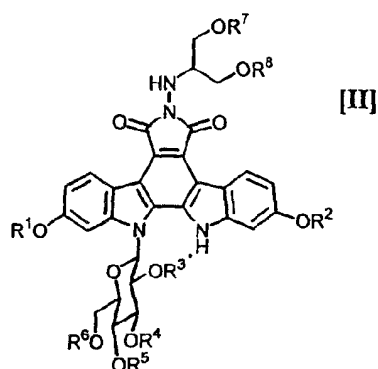
本发明人业已对吡啶并咪唑衍生物[I]的制备方法进行了长时间的研究，结果，他们发现本发明的吡啶并咪唑衍生物[I]的制备方法并且完成了本发明，该方法作为工业化方法是很优异的，原因在于处理高生理活性化合物的步骤可以只在最后的步骤进行。此外，他们还发现本发明的吡啶并咪唑衍生物[I]的制备方法中所使用的各个制备中间体是新的化合物。

也就是说，本发明涉及下列(1)-(36)项所述的主题。

(1)一种式[I]所示吡啶并咪唑衍生物的制备方法：



其包括脱去通式[II]所示化合物的保护基:

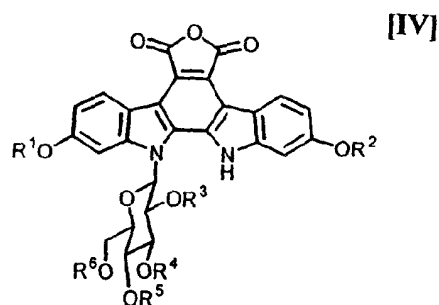


15 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基, R^7 和 R^8 可以相同或不同且分别表示氢原子或羟基的保护基。

(2)按照(1)项的方法, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 是苄基。

20 (3)按照(1)项的方法, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 是苄基并且 R^7 和 R^8 是氢原子。

(4)按照(1)项的方法, 其中通式[II]表示的化合物是通过通式[IV]所示化合物:



30 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 可以相同或不同且分别表示羟基

的保护基，与通式[III]所示的胍二醇衍生物酸加成盐：



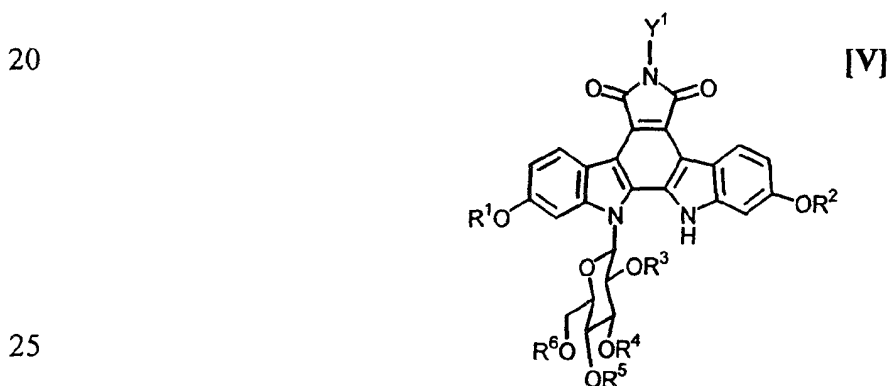
10 其中 X 表示酸分子，R⁷ 和 R⁸ 可以相同或不同并分别表示氢原子或羟基的保护基，在酸俘获剂（acid-capturing agent）的存在下反应制得。

(5)按照(4)项的方法，其中 R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷ 和 R⁸ 是苄基。

15 (6)按照(4)项的方法，其中 R¹、R²、R³、R⁴、R⁵ 和 R⁶ 是苄基且 R⁷ 和 R⁸ 是氢原子。

(7)按照(4)项的方法，其中 X 是草酸。

(8)按照(4)项的方法，其中通式[IV]所示的化合物通过用碱在惰性溶剂中处理通式[V]所示化合物获得：



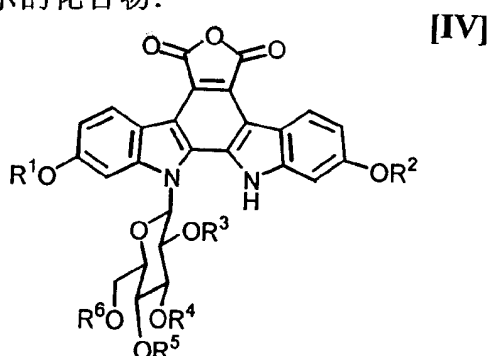
其中 Y¹ 表示氢原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、苄基、苄氧基甲基或芳烷基，R¹、R²、R³、R⁴、R⁵ 和 R⁶ 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基。

30 (9)按照(8)项的方法，其中 Y¹ 是甲基。

(10)按照(8)项的方法, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 是苄基。

(11)通式[IV]所示的化合物:

5



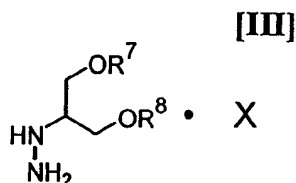
10

其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 可以相同或不同且分别是羟基的保护基。

(12)按照(11)项的化合物, 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 是苄基。

(13)通式[III]表示的胍二醇衍生物酸加成盐:

15



其中 X 表示酸分子, R^7 和 R^8 可以相同或不同并且分别表示氢原子或羟基的保护基。

20

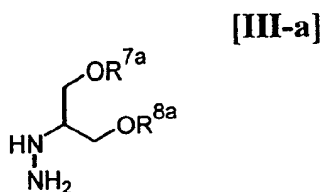
(14)按照(13)项的化合物, 其中 R^7 和 R^8 是苄基。

(15)按照(13)的化合物, 其中 R^7 和 R^8 是氢原子。

(16)按照(13)项的化合物, 其中 X 是草酸。

(17)通式[III-a]所示的胍二醇衍生物:

25

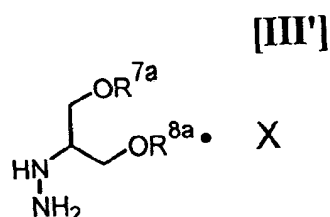


其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同并分别表示羟基的保护基。

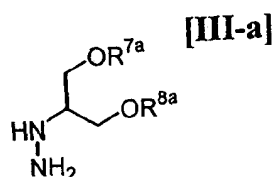
(18)按照(17)项的化合物, 其中 R^{7a} 和 R^{8a} 是苄基。

(19)一种制备通式[III']表示的胍二醇衍生物酸加成盐的方法:

30



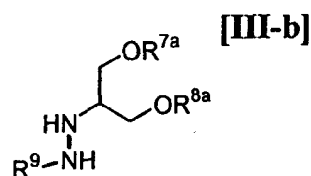
其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同并分别表示羟基的保护基, X 表示
5 酸分子, 所述的方法包括使通式[III-a]所示的胍二醇衍生物与酸反应:



10 其中 R^{7a} 和 R^{8a} 定义如上。

(20)按照(19)项的方法, 其中 R^{7a} 和 R^{8a} 是苄基。

(21)按照(19)项的方法, 其中通过消除通式[III-b]所示胍二醇衍生物
的氨基的保护基来获得通式[III-a]所示的胍二醇衍生物:

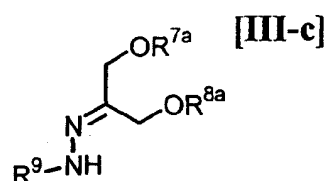


15

其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同并分别表示羟基的保护基。

(22)按照(21)项的方法, 其中 R^{7a} 和 R^{8a} 是苄基且 R^9 是叔丁氧基羰
20 基。

(23)按照(21)项的方法, 其中通过还原通式[III-c]所示的脎衍生物
来制得通式[III-b]所示的胍二醇衍生物:



25

其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同并分别表示羟基的保护基, R^9 表示
氨基的保护基。

30 (24)按照(23)项的方法, 其中 R^{7a} 和 R^{8a} 是苄基且 R^9 是叔丁氧基羰

基。

(25)按照(23)项的方法，其中通式[III-c]所示的脒衍生物通过通式[III-e]所示的二羟基丙酮衍生物：



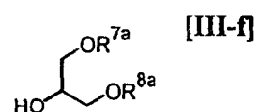
其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同并分别表示羟基的保护基，与通式[III-d]所示的脒衍生物：



其中 R^9 表示氨基的保护基，在混合溶剂中反应得到。

(26)按照(25)项的方法，其中 R^{7a} 和 R^{8a} 是苄基且 R^9 是叔丁氧基羰基。

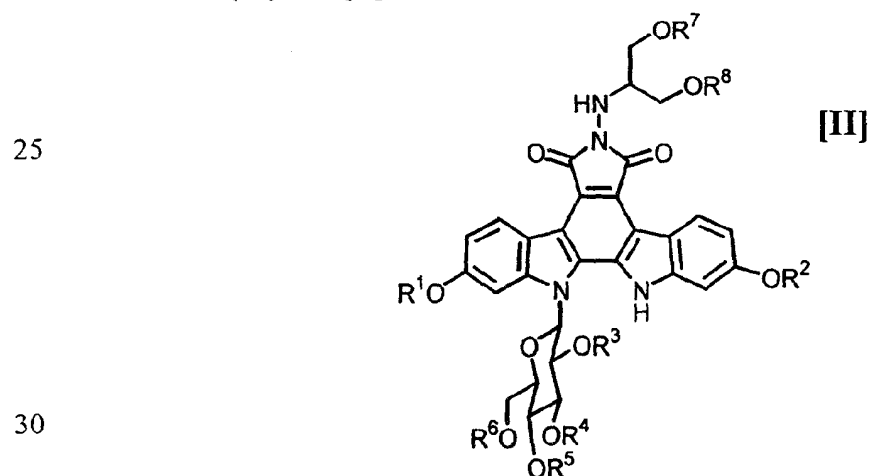
15 (27)按照(25)项的方法，其中通式[III-e]所示的二羟基丙酮衍生物通过通式[III-f]所示的丙三醇衍生物：



20 其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同并分别表示羟基的保护基，与次氯酸盐在惰性溶剂中在催化剂和缓冲剂的存在下反应得到。

(28)按照(27)项的方法，其中 R^{7a} 和 R^{8a} 是苄基。

(29)通式[II]所示的化合物：



其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基， R^7 和 R^8 可以相同或不同且分别表示氢原子或羟基的保护基。

(30)按照(29)项的化合物，其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 是苄基。

(31)按照(29)项的化合物，其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 是苄基，并且 R^7 和 R^8 是氢原子。

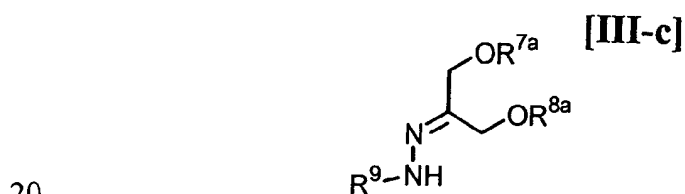
(32)通式[III-b]所示的胍二醇衍生物或其盐：



其中 R^{7a} 和 R^{8a} 分别表示羟基的保护基并且 R^9 是氨基的保护基。

(33)按照(32)项的化合物，其中 R^{7a} 和 R^{8a} 是苄基并且 R^9 是叔丁氧基羰基。

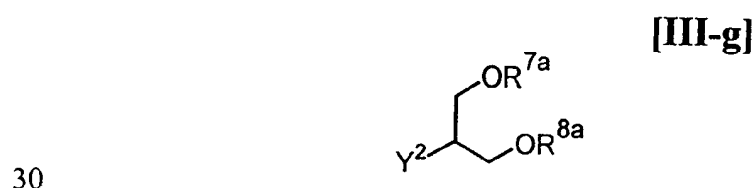
(34)通式[III-c]表示的脒衍生物：



其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基， R^9 表示氨基的保护基。

(35)按照(34)项的方法，其中 R^{7a} 和 R^{8a} 是苄基且 R^9 是叔丁氧基羰基。

(36)按照(21)项的方法，其中通式[III-b]所示的胍二醇衍生物是通过通式[III-g]所示的丙二醇衍生物：



其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基， Y^2 表示可消除的基团，与通式[III-d]所示的胍衍生物：



其中 R^9 表示氨基的保护基，在惰性溶剂中反应得到。

发明的最佳实施方式

下文将具体和详细地描述本发明。

10

说明书中所使用的术语含义如下。

“具有 1-4 个碳原子的烷基”是指直链或支链烷基，如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基或叔丁基，其中优选甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基等，更优选甲基、乙基、丙基、异丙基或丁基。

15

“芳烷基”是指具有 7-12 个碳原子的芳烷基，例如苄基、1-萘甲基或 2-萘甲基，优选苄基。

“酸分子”是指质子酸，例如盐酸、硫酸、硝酸、乙酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、草酸或丙酸，优选草酸。

20

“羟基的保护基”包括羟基的保护基，例如苄基、对硝基苄基、对甲氧基苄基或苄氧基甲基，优选苄基。

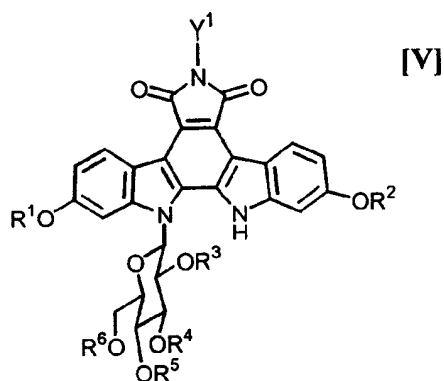
25

“氨基的保护基”包括羟基的保护基，例如甲氧基羰基、乙氧基羰基、叔丁氧基羰基或苄氧基羰基，优选叔丁氧基羰基。

本发明制备方法的第一步，也就是，包括用碱在惰性溶剂中处理通式[V]所示的化合物：

30

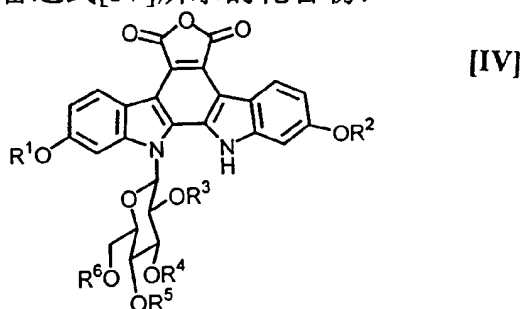
5



10

其中 Y^1 表示氢原子、具有 1-4 个碳原子的烷基、苯基、苄氧基甲基或芳烷基, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基, R^7 和 R^8 可以相同或不同且分别表示氢原子或羟基的保护基, 以制备通式[IV]所示的化合物:

15



20

其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 R^6 定义如上的步骤。该步骤通常在该反应没有不良影响的惰性溶剂中进行, 每 1 摩尔的通式[V]所示化合物使用 50-100 摩尔, 优选 50-70 摩尔的碱。

25

作为惰性溶剂, 可以提及例如: 醇, 如甲醇、乙醇、异丙醇或叔丁醇; 二甲基亚砷; 或其混合溶剂等; 并且特别优选甲醇、乙醇、异丙醇等。

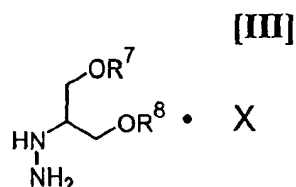
作为碱, 可以提及例如, 氢氧化钠、氢氧化钾、甲醇钾、甲醇钠、叔丁醇钠或叔丁醇钾等, 特别优选氢氧化钠、氢氧化钾、甲醇钠等。

30

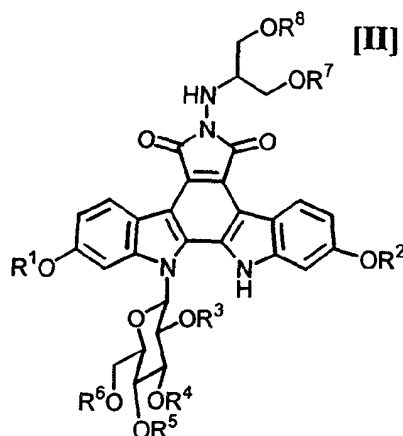
反应温度常常是室温至约 60°C , 优选 30°C - 50°C , 并且反应时间通常为 1 小时-1 天, 优选 3 小时-10 小时。

例如, 通过 WO95/30682 等所述的方法可以制备或得到在上述步骤中作为原料使用的通式[V]所示的化合物。

包括将上步所得的化合物[IV]与通式[III]所示的胍二醇衍生物酸加成盐:



其中 X 表示酸分子, R^7 和 R^8 可以相同或不同并分别表示氢原子或羟基的保护基, 在酸俘获剂的存在下反应, 从而制备通式[II]所示的化合物:



其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 和 R^8 定义如上的步骤通常在该反应没有不利影响的惰性溶剂中在酸俘获剂的存在下进行, 每 1mol 的通式[IV]化合物使用等摩尔至 1.5 摩尔, 优选 1.2 至 1.3 摩尔的通式[III]的化合物。

作为惰性溶剂, 可以提及例如: N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、四氢呋喃、二甲基亚砜、N-甲基吡咯烷酮或其混合溶剂; 特别优选 N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、N-甲基吡咯烷酮等。

反应温度一般为室温至约 60°C , 优选约 30°C - 50°C , 反应时间一

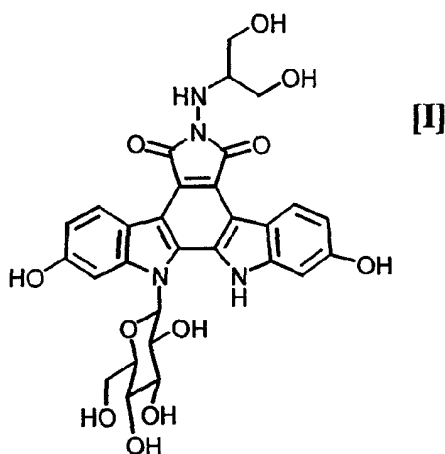
一般为1小时-1天，优选1小时至3小时。

作为酸俘获剂，可以提及例如三乙胺或4-二甲基氨基吡啶，并且优选是三乙胺。

5

对于包括脱除上步得到的化合物[II]的保护基以制备式[I]所示吡咯并咪唑衍生物的步骤：

10



15

当通过催化还原进行该反应时，催化剂包括，例如碳载钯催化剂、阮内（Raney）镍催化剂等。

20

该催化还原中的氢气压通常优选是常压至2个大气压（atm），并且催化剂的用量一般是每1重量份的作为原料的通式[II]所示化合物使用1/100-1倍，优选1/100-1/10倍催化剂。

25

作为反应溶剂，可以提及例如醇溶剂如甲醇、乙醇或丁醇与四氢呋喃的混合溶剂，并且优选甲醇/四氢呋喃(50/50)的混合溶剂。

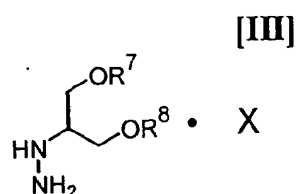
反应温度通常为约-30℃至60℃，优选约0℃至50℃，并且反应时间一般为瞬时至7天，优选瞬时至24小时。

30

在上述制备步骤得到的各个化合物可以由本身已知的方法纯化或

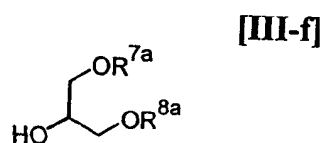
分离，也就是常用的分离或纯化方法，例如使用硅胶或吸附树脂的柱色谱、液相色谱或薄层色谱，溶剂抽提和重结晶或再沉淀，根据需要单独采用上述方法或者两种或多种方法的适当组合。

下文将描述了制备通式[III]所示胍二醇衍生物酸加成盐的各个步骤：

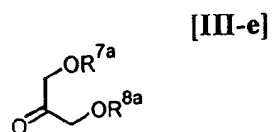


其中 X 表示酸分子， R^7 和 R^8 可以相同或不同并分别表示氢原子或羟基的保护基，该化合物是本发明的制备方法中的一种原料化合物。

通过通式[III-f]所示的丙三醇衍生物：



其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同并分别表示氢原子或羟基的保护基，与次氯酸盐在惰性溶剂中在缓冲剂的存在下反应，以制备通式[III-e]所示二羟基丙酮衍生物的步骤：



其中 R^{7a} 和 R^{8a} 的定义同上，可以通过向惰性溶剂中加入催化剂和缓冲剂，再在 -30°C 至 50°C ，优选 -10°C 至 10°C 下于 1 小时至 3 小时内进行该步骤，优选在 1.5 小时至 2 小时内加入次氯酸盐，并且使该反应在相同的温度下进行 1 小时至 3 小时，优选 1.5 小时至 2 小时。

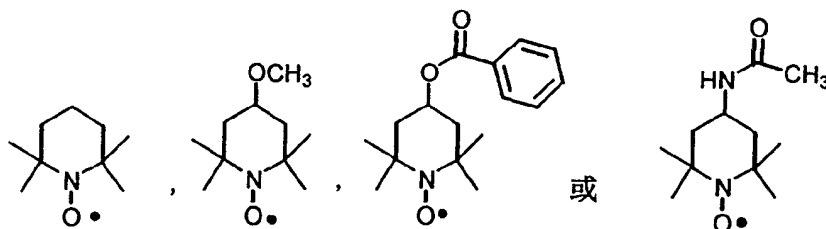
对于每 1 摩尔的通式[III-f]所示的丙三醇衍生物，可以使用 0.005

摩尔-1.0 摩尔, 优选 0.05 摩尔-0.15 摩尔的催化剂, 0.5 摩尔-2.0 摩尔, 优选 1.0 摩尔-1.5 摩尔的缓冲剂和 0.5 摩尔至 2.0 摩尔, 优选 1.0 摩尔至 1.5 摩尔的次氯酸盐。

5 作为该步骤中使用的惰性溶剂, 可以提及例如二甲亚砜、二甲基甲酰胺、二甲基乙酰胺、乙腈、丙腈、甲苯、二甲苯或苯等, 并且优选乙腈或丙腈。

作为该步骤使用的催化剂, 可以提及:

10



15

催化剂是可获得的市售化合物或文献中记载的已知化合物。

作为该步骤中使用的缓冲剂, 可以使用任何缓冲剂, 只要可以抑制加入次氯酸盐后的反应混合物的 pH 变化即可, 而且可以提及 0.5% 饱和碳酸氢钠水溶液、磷酸盐缓冲溶液等。

20

作为该步骤中使用的次氯酸盐, 可以使用例如次氯酸钠、次氯酸钾、次氯酸钙等。

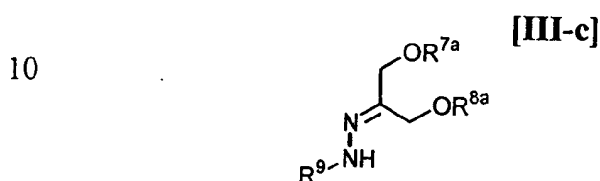
25 该步骤中使用的原料(通式[III-f]所示的化合物)可以按照已知方法制备(Canadian Journal of Chemistry, 62 卷, 241 页(1984))或可以利用市售产品。

对于这个步骤, 在一种已知方法的情况中(Tetranhehron, 55 卷, 739 页(1999)), 该步骤可以通过用碳酸氢钠调节与反应溶液分开单独制备

30

的次氯酸钠溶液至 pH 9.5, 并且此后立刻将该混合物加入到该反应溶液内进行。在这种情况下, 其缺点在于在调节 pH 时会形成氯气, 该方法不适合作为工业制备方法, 而且另一缺点是由于难以精确加入次氯酸盐, 所以由于过度氧化会生成杂质。在本发明中, 通过向反应溶液中预先加入缓冲剂并且逐渐加入次氯酸盐, 就可以克服已知方法的这些缺点并提高该步骤的收率。

制备通式[III-c]所示脒衍生物的步骤:



其中 R^{7a} 和 R^{8a} 定义如上, 并且 R^9 表示氨基的保护基, 是通过如上所得的通式[III-e]所示的二羟基丙酮衍生物与通式[III-d]所示脒衍生物在混合溶剂中反应进行:



可以在混合溶剂中于 70°C-80°C, 优选 70°C-75°C 下进行 1 小时-3 小时, 优选 1 小时-1.5 小时该步骤。

对于每 1 摩尔的通式[III-e]所示二羟基丙酮衍生物, 可以使用的通式[III-d]所示的脒衍生物的比例是 1.0 摩尔-8.0 摩尔, 优选 1.1 摩尔-1.5 摩尔。

该步骤中所用的混合溶剂是通过以 50:1-10:1(体积比)的比例, 优选以 30:1-20:1(体积比)的比例将苯、甲苯、乙醇、异丙醇、乙腈等与脂肪族烃如己烷或庚烷混合得到的混合溶剂。

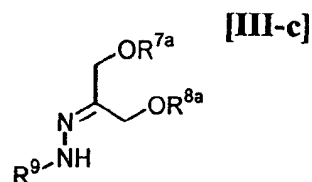
30 在一种已知方法 (有机化学期刊(Journal of Organic Chemistry) 46

卷, 5413 页(1981))中, 这个步骤是在例如在单一溶剂(己烷)中回流 20 分钟的反应条件下进行的。但当该步骤在所述条件下进行时, 会发生所制备的脎衍生物的纯度降低的问题, 并且生成的副产物残留在终产物中。

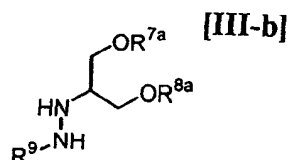
5

按照本发明, 在该反应在 70°C-80°C 下在混合溶剂中进行 1 小时-3 小时后, 通过在 60°C 下结晶通式[III-c]所示脎衍生物并且使该反应混合物的温度逐渐降低至室温, 可以克服已知方法的问题。

10 通过还原通式[III-c]所示脎衍生物,



15 其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基, 并且 R⁹ 表示氨基的保护基, 制备通式[III-b]所示脎二醇衍生物的步骤:



20

其中 R^{7a}、R^{8a} 和 R⁹ 定义如上, 可以通过在惰性溶剂的存在或不存在下, 使 2 至 5 倍摩尔的还原剂在 0°C-80°C, 优选 0°C-70°C 下反应 30 分钟-48 小时, 优选 1 小时-41 小时完成。

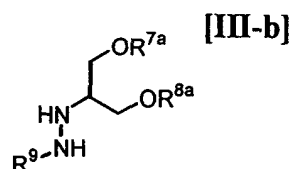
25 作为该步骤中使用的惰性溶剂, 可以提及有机溶剂, 例如庚烷、己烷、甲醇、乙醇或四氢呋喃, 并且优选四氢呋喃、乙醇或不存在有机溶剂。

30 作为在该步骤中使用的还原剂, 可以提及的还原剂, 例如, BH₃-四氢呋喃络合物、NaBH₄、NaBH(OAc)₃、NaH₃BCN、乙硼烷、BH₃-

二甲基硫、raney 镍、二异丁基铝氢化物(DIBAL)、 $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$ 、 LiBH_4 、 Pt-S/C 或 LiAlH_4 ，并且优选 BH_3 -四氢呋喃络合物或 NaBH_4 。

当还原剂是硼化合物时，为了加速该反应体系中 BH_3 的生成，每 1.0 摩尔的还原剂可以加入 0.5-1.0 摩尔的例如 BF_3 、 BCl_3 、硫酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、盐酸、氯化铝、氯化锌、二甲基硫酸盐、二乙基硫酸盐、碘甲烷等。

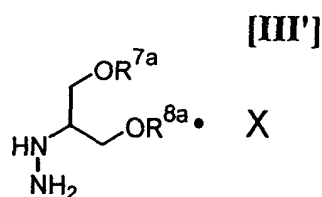
消除通式[III-b]所示胍二醇衍生物的氨基(R^9)的保护基的步骤：



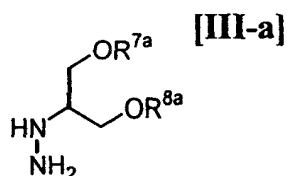
其中 R^{7a} 、 R^{8a} 和 R^9 定义如上，可以通过使 2-20 当量的无机酸在溶剂如四氢呋喃中于 50°C - 100°C 下作用 3 小时-24 小时进行。

作为无机酸，可以提及例如盐酸、硫酸或硝酸，并且优选 6N (6-normal) 的盐酸。

20 制备通式[III']所示胍二醇衍生物酸加成盐的步骤：



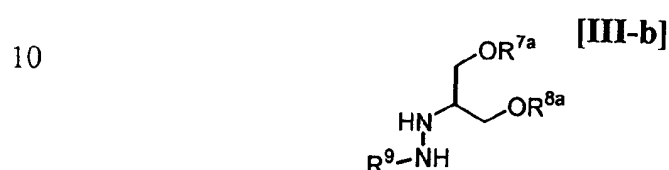
25 其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基，X 表示酸分子，可以通过使如上所得的通式[III-a]所示胍二醇衍生物与酸反应进行：



其中 R^{7a} 和 R^{8a} 定义如上。该步骤可以通过 0.5 当量-2 当量的酸在惰性溶剂，如甲基叔丁基醚或甲基叔丁基醚与甲醇的混合溶剂中，在室温至 40°C 下反应 30 分钟至 2 小时来完成。

- 5 作为该步骤中使用的酸，可以提及例如质子酸，如盐酸、硫酸、硝酸、乙酸、甲基磺酸、对甲苯磺酸、草酸或丙酸，并且优选草酸。

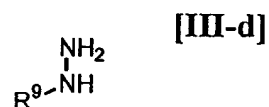
制备通式[III-b]所示胍二醇衍生物的步骤：



其中 R^{7a} 和 R^{8a} 可以相同或不同且分别表示羟基的保护基，并且 R^9 表示氨基的保护基，可以通过通式[III-g]所示的丙二醇衍生物：



- 20 其中 R^{7a} 和 R^{8a} 定义如上，并且 Y^2 表示可消除基团，与通式[III-d]所示的胍衍生物：



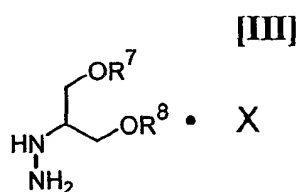
- 25 其中 R^9 定义如上，在惰性溶剂中反应进行。该步骤可以通过使该反应在惰性溶剂，例如 N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、N-甲基吡咯烷酮或二甲亚砜中，在 80°C-150°C，优选在 100°C-120°C 下进行 50 小时至 100 小时，优选 70 小时-80 小时完成。

- 30 通式[III-d]所示的胍衍生物的用量基于通式[III-g]所示的丙三醇衍生物计是 1 当量-20 当量，优选 1.5 当量-3 当量。

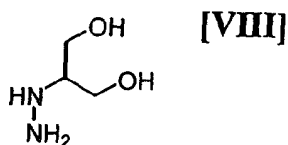
Y^2 表示的可消除基团是指例如甲基磺酰氧基、氯甲基磺酰氧基、对甲苯磺酰氧基、三氟甲基磺酰氧基或对硝基苯磺酰氧基。

5 通式[III-g]所示的丙三醇衍生物可以通过文献所述的方法获得，例如 Journal of Chemical Society Perkin Transaction-I, 2757 页(1988)或与前面方法相似的方法。

10 在本发明的制备方法中作为一种原料化合物的通式[III]所示的胍衍生物酸加成盐中：



15 其中 X 表示酸分子，并且 R^7 和 R^8 分别表示氢原子和羟基的保护基，其中 R^7 和 R^8 是氢原子的化合物可以通过按照 WO95/30682 所公开的方法来制备式[VIII]所示化合物而制备：



20 并且按照上述步骤进行相同的处理，其中将通式[III-a]所示的胍二醇衍生物转化为其酸加成盐。

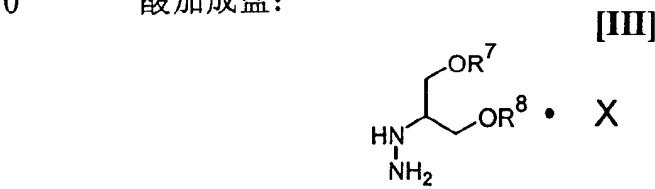
25 上述各制备步骤中获得的化合物可以通过本身已知的方法纯化或分离，也就是通过常用的分离或纯化方法，例如使用硅胶、吸附树脂或类似物质的柱色谱、液相色谱或薄层色谱，溶剂抽提以及重结晶或再沉淀，这些方法可以单独使用或根据需要适当组合。

30 下文还描述了本发明的制备方法作为工业化制备方法的有用性。

式[VIII]所示的化合物：



其是已知化合物(WO95/30682)，它是油状物质且稳定性低，因此基于上述原因必须在低温储存在溶剂中，而通式[III]所示胍二醇衍生物酸加成盐：



其中 X 表示酸分子，并且 R⁷ 和 R⁸ 分别表示氢原子和羟基的保护基，是本发明的一种制备原料，其是结晶的形式，并因此很容易分离并具有高稳定性，所以，比已知物质具有更加适合工业化生产的特性和状态。

而且从表 1 的试验结果能够显而易见地看出，按照本发明制备方法中的制备中间体对拓扑异构酶 I 的抑制活性远远低于已知方法中的那些中间体(WO95/30682 公开的制备方法)，并且因此可以利用常规设备来制备，同时可以减小工人在接触高活性化合物的有关步骤中的危险性。所以，与已知方法相比，本发明的制备方法可以堪称是一种在生产设备方面和工人安全性方面上都很优异的工业制造方法。

表 1 拓扑异构酶 I 的抑制活性

试验化合物	EC50(μM)
实施例 1 的预期化合物	>1,000
实施例 2 的预期化合物	>1,000
对比实施例(化合物[b]) (Ra=甲基)	0.68
对比实施例(化合物[c])	0.18

通过 Yoshinari T 等在癌症研究 (Cancer Research) 55 卷, 1310 页 (1995) 中所述的方法分析拓扑异构酶 I 抑制活性。

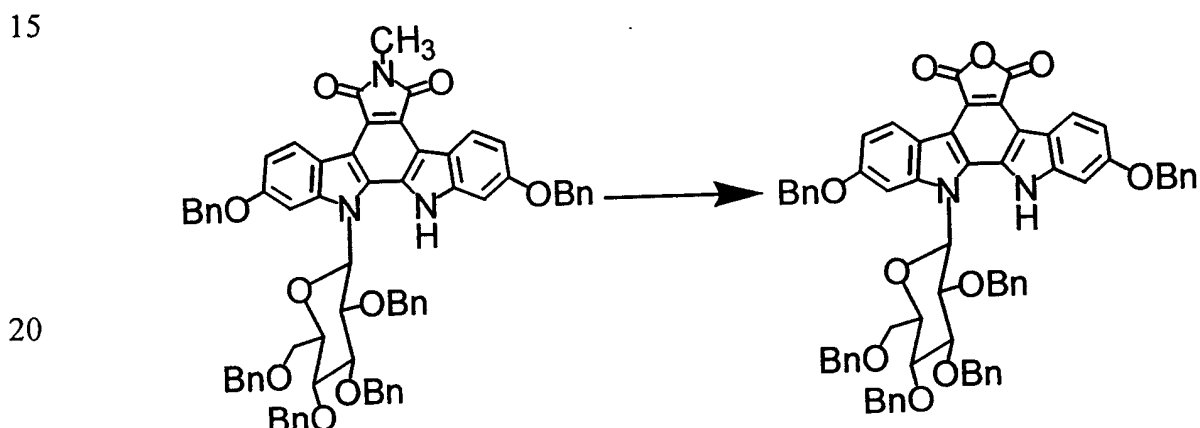
5 在该表中, EC50 是指抑制 50% 拓扑异构酶 I 活性所需要的化合物的浓度。

实施例

10 通过下面的实施例和参考实施例进一步具体描述本发明, 但本发明完全不受此限制。Bn 和 Boc 分别是指苄基和叔丁氧基羰基。

实施例 1

12,13-二氢-2,10-二苄氧基-13-(β -D-2,3,4,6-四-O-苄基吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]咔唑-5,6-二甲酸酐的制备



25 将搅拌器和温度计安装在 300mL 的四颈烧瓶中并加入 36mL(毫升)乙醇。在搅拌乙醇的同时, 加入 12,13-二氢-2,10-二苄氧基-13-(β -D-2,3,4,6-四-O-苄基吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]咔唑-6-甲基-5,7(6H)-二酮(670mg, 0.62mmol)并在室温下搅拌该混合物 1 小时。在该温度下 20 分钟内滴加 5N 氢氧化钾水溶液(8mL)。使内温达到 60 °C 并搅拌该混合物 4 小时, 随后在室温下搅拌过夜。向所得的褐色溶液中加入甲苯(20mL), 并且在该温度下于约 30 分钟内滴加 1.0N 盐酸(62mL), 使该混合物达到 pH 2.6。向该黄色溶液内加入四氢呋喃(10mL)

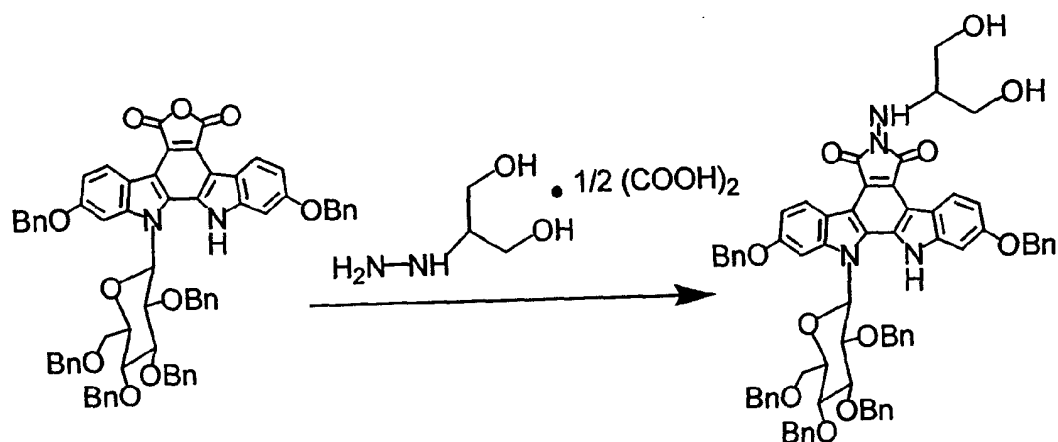
30

并搅拌该混合物 6 小时。分离水层(下层), 有机层依次用纯水(10mL X 2 次)和饱和盐水(盐水是氯化钠的水溶液)(10mL)洗涤, 用无水硫酸钠(5g)干燥并过滤。在减压下蒸馏除去溶剂得到所需化合物 12,13-二氢-2,10-二苄氧基-13-(β -D-2,3,4,6-四-O-苄基吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]咔唑-5,6-二甲酸酐(0.63g, 收率 85%), 其为黄色油状残余物。

$^1\text{H-NMR}$ (270MHz, CDCl_3 , δ ppm): 10.79 (1H, br.s,), 9.04 (1H, d, $J=9.2\text{Hz}$), 8.95 (1H, d, $J=9.6\text{Hz}$), 7.26 (32H, m), 6.17 (2H, d, $J=7.3\text{Hz}$), 5.85 (1H, d, $J=8.2\text{Hz}$), 4.89 (10H, m), 4.32 (1H, t, $J=8.9\text{Hz}$), 3.96 (6H, m), 3.13 (1H, d, $J=10.2\text{Hz}$)

实施例 2

12,13-二氢-2,10-二苄氧基-6-N-(1-羟甲基-2-羟乙基氨基)-13-(β -D-2,3,4,6-四-O-苄基吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]咔唑-5,7(6H)-二酮的制备



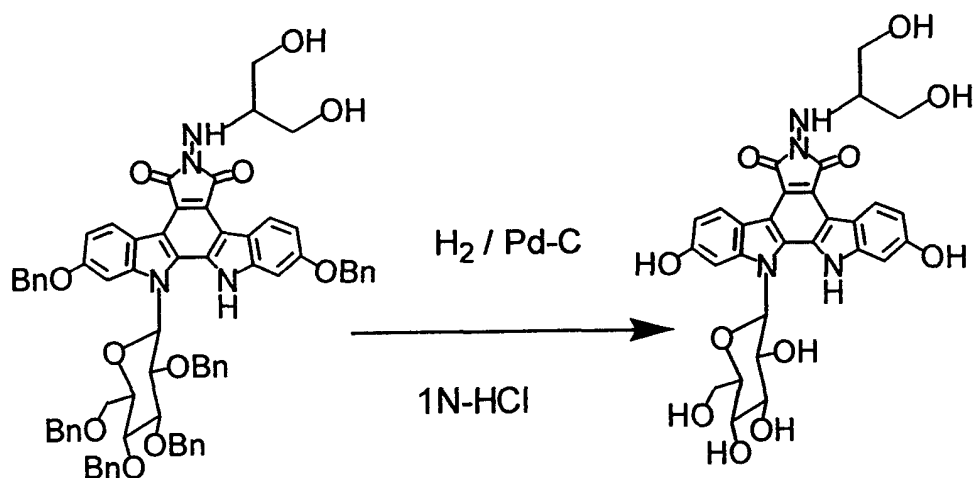
将实施例 1 得到的 12,13-二氢-2,10-二苄氧基-13-(β -D-2,3,4,6-四-O-苄基吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]咔唑-5,6-二甲酸酐(1.46g)和 N,N-二甲基乙酰胺(15mL)置于 50mL 的三颈烧瓶中。在搅拌该混合物的同时, 加入 N-(1-羟甲基-2-羟乙基)胍草酸盐(0.23g)和三乙胺。使内温达到 60 $^{\circ}\text{C}$, 搅拌该混合物 1.5 小时并冷却至室温。向所得的橙色溶液中加入甲基叔丁基醚(10mL)和纯水(5mL), 并且搅拌该混合物 30 小时。分离水层(下层), 依次用水(5mL X 2 次)和饱和盐水(10mL)洗涤该有机层, 用

无水硫酸钠(5g)干燥, 并且过滤。减压下蒸馏除去溶剂得到预期化合物 12,13-二氢-2,10-二苄氧基-6-N-(1-羟甲基-2-羟乙基氨基)-13-(β-D-2,3,4,6-四-O-苄基吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]咔唑-5,7(6H)-二酮(1.47g; 收率 92%), 其为橙色残余物。

¹H-NMR (270MHz, CDCl₃), δ (ppm): 10.68 (1H, br.s.), 9.14 (1H, d, J=9.2Hz), 9.05 (1H, d, J=9.6Hz), 7.27 (32H, m), 6.20 (2H, d, J=6.9Hz), 5.83 (1H, d, J=8.9Hz), 4.87 (11H, m), 4.32 (1H, t, J=9.4Hz), 3.77 (13H, m), 3.05 (1H, d, J=9.9Hz)

实施例 3

12,13-二氢-2,10-二羟基-6-N-(1-羟甲基-2-羟乙基氨基)-13-(β-D-吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]咔唑-5,7(6H)-二酮的制备

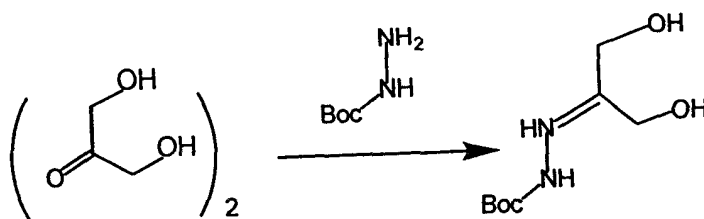


将实施例 2 中得到的 12,13-二氢-2,10-二苄氧基-6-N-(1-羟甲基-2-羟乙基氨基)-13-(β-D-2,3,4,6-四-O-苄基吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]咔唑-5,7(6H)-二酮(500mg)和甲醇/四氢呋喃(50/50) (10mL)置于氢化装置中, 并且在确定溶解之后, 加入 10%碳载钯(100mg)和 1N 盐酸(100μL)(μL: 微升)。在通入氢气三次之后, 使氢气压力固定在 29.4 帕斯卡(pascal), 内温为 40℃, 并且搅拌该混合物 3 小时。过滤出碳载钯, 向滤液内加入活性炭(50mg)并搅拌该混合物 1 小时。过滤出活性炭之后, 加入纯水(1ml)和庚烷(40mL), 并且分离所得的两个层。浓缩

水层至 1mL 以便蒸馏除去溶剂，并且在搅拌该浓缩物下缓慢滴加甲醇(3mL)。将所得的悬浮液(无定形沉积)加热至 90℃，回流 9 小时，冷却至室温并且搅拌过夜。过滤该悬浮液得到无定形物质(无定形，橙色，170mg；收率 64%)。向该无定形物质中加入甲醇(3ml)，并且回流该混合物 9 小时，冷却至室温并搅拌过夜。过滤该悬浮液得到黄色结晶物质(100mg；收率 59%)。由于该黄色结晶物质与 WO95/30682 的实施例 1 所述化合物的质谱、红外吸收光谱和核磁共振光谱相吻合，该黄色结晶物质被鉴定为 12,13-二氢-2,10-二羟基-6-N-(1-羟甲基-2-羟乙基氨基)-13-(β-D-吡喃葡萄糖基)-5H-吡啶并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]吡啶-5,7(6H)-二酮。

实施例 4

1,2-二羟基丙酮叔丁氧基羰基脒的制备

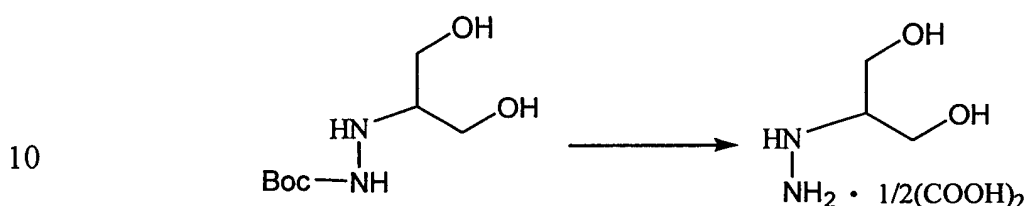


在室温下将乙醇(6L)(L 是指升)、1,3-二羟基丙酮二聚体(137.82g, 0.765mol)和叔丁氧基羰基酰肼(198.24g, 1.5mol)置于安装有搅拌器、温度计和氮气引入管的 10L 四颈烧瓶中并在氮气流下搅拌。室温下搅拌该混合物过夜之后，在 50℃的外部温度和减压下浓缩该反应溶液至约 0.5L。向该浓缩物内加入乙酸乙酯(2.5L)并在减压下浓缩该混合物至约 0.5L。进一步加入乙酸乙酯(2.5L)并在减压下将混合物浓缩至约 0.5L。向该浓缩物中加入乙酸乙酯(1.5L)并在 25℃的外部温度下搅拌该混合物 1 小时。随后使该混合物冷却至 5℃并搅拌 1 小时 30 分钟，通过过滤得到沉积的结晶，用乙酸乙酯(550mL)洗涤并在 40℃下真空干燥过夜，得到 1,2-二羟基丙酮叔丁氧基羰基脒，其为无色结晶(285.43g；收率 93%)。

$^1\text{H-NMR}$ (270MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 9.97 (1H, br.s), 5.60 (1H, br.s), 4.87 (1H, t, $J=5.61\text{Hz}$), 4.24 (1H, br.s), 3.93 (2H, d, $J=5.61\text{Hz}$), 1.42 (9H, s)

5 实施例 5

N-(1-羟甲基-2-羟乙基)胍半草酸盐的制备



将 1,2-二羟基丙酮叔丁氧基羰基脒(102.11g, 0.5mol)和四氢呋喃(204mL)置于带有搅拌器、Dimroth 冷凝器、滴液漏斗、温度计和氮气引入管的 3L 四颈烧瓶中并放置在油浴中。在-4℃至 3℃下在 40 分钟内向该混悬液内滴加 1M 硼烷-四氢呋喃络合物溶液(0.75L, 0.75mol)。在-3 至 3℃下搅拌该反应溶液 1 小时且在 15 分钟内滴加 6N 盐酸(208mL)(内温升高 11.2℃)。在油浴内回流下使该反应溶液沸腾 1 小时, 冷却并在 15℃或更低温度下搅拌 30 分钟。将该反应溶液浓缩至约 300mL 并将浓缩物单独置于 5℃下过夜。过滤出沉积的硼酸并用纯水(100mL X2)洗涤。合并滤液和洗涤液(约 500mL)并且加载在道威克斯离子交换树脂 (Dowex) 50 X 4(约 1.5L), 用水洗涤该 Dowex 50 X 4, 所需的产物用 0.6N 氨水(6L)洗脱。收集所需的馏分(约 1.5L)并在减压下在 45℃的外部温度下浓缩直至它们达到油状。向得到的浓缩残余物中加入纯水(1.0L), 并且在 45℃的外部温度下浓缩该混合物直至得到油性物质。该浓缩物进一步在室温和减压下浓缩 24 小时得到 N-(1-羟甲基-2-羟乙基)胍(49.6g), 其为无色油状残余物, 它在-30℃下固化。

在氮气流下将所得的固化物质和甲醇(250mL)置于 1L 的四颈烧瓶内, 并且在搅拌下于 22 分钟内滴加将草酸(23.02g, 0.28mol)溶解在甲醇

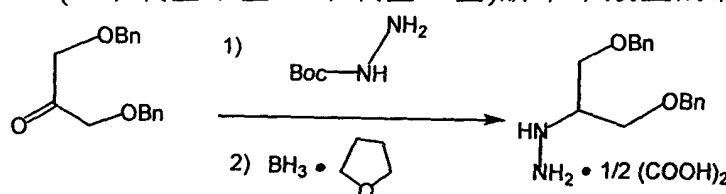
(250mL)中所获得的溶液(温度从 17℃升高至最大值 39.4℃)。从开始滴加的那刻起,沉积出结晶。室温下搅拌 3 小时后,使该混合物冷却至 5℃并搅拌 1 小时。过滤收集结晶,用甲醇(250mL)洗涤并在室温下在减压下干燥 18 小时,得到所需化合物 N-(1-羟甲基-2-羟乙基)胍半草酸盐(59.2g; 收率 78.3%),其为无色结晶。

$^1\text{H-NMR}$ (270MHz, D_2O), δ (ppm): 3.69(2H, m), 3.59(2H, m), 3.20(1H, m)

实施例 6

N-(1-苄氧基甲基-2-苄氧基乙基)胍半草酸盐的制备

10



将 1,3-苄氧基-2-丙酮(113g, 395mmol)(参见 R.Csuk 等, Tetrahedron, 55 卷, 739-750(1999))、叔丁氧基羰基胍(57.4g, 435mmol)和庚烷(1.57L)的混合溶液在回流下搅拌 1 小时并冷却至室温,通过过滤收集沉积的产物并在减压下干燥,得到胍衍生物(120g; 收率 78%)。

15

$^1\text{H-NMR}$ (270MHz, CDCl_3 , δ ppm): 9.69(1H, br. s), 7.40-7.25(10H, m), 4.51(2H, s), 4.49(2H, s), 4.35(2H, s), 4.12(2H, s)

取 10.0g(26.0mmol)所得的胍衍生物,滴加硼烷-四氢呋喃(1M 的四氢呋喃溶液, 78mL, 78mmol),室温下搅拌该混合物 1 小时并冷却至 8℃,滴加 6N 盐酸(42mL)。在 65℃的内温下搅拌该混合物 10 分钟并冷却至 0℃,加入 10%碳酸钠溶液(280mL),并用甲基叔丁基醚(100mL)提取该混合物。用水洗涤有机层,用硫酸钠干燥且过滤。向该溶液内加入甲基叔丁基醚(90ml)并在 20 分钟内滴加草酸(1.20g, 13.3mmol)在甲醇(13mL)中的溶液。搅拌该混合物 20 分钟,通过过滤收集沉积的产物并在减压下干燥,得到所需的标题化合物(5.71g; 收率 66%)。

20

25

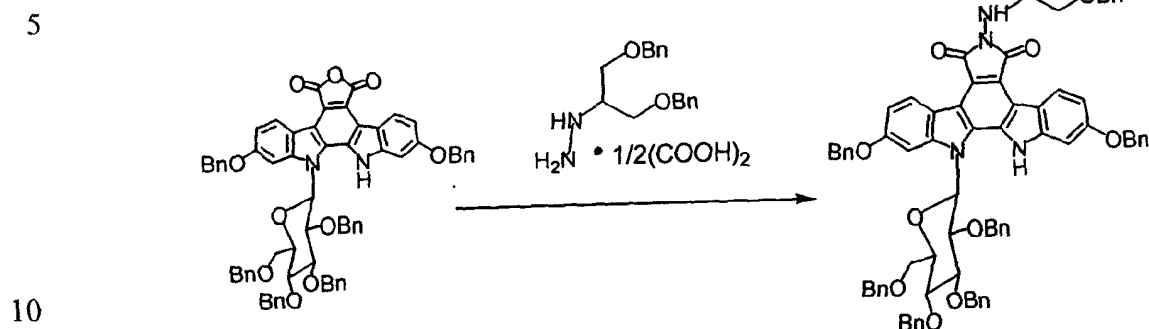
$^1\text{H-NMR}$ (270MHz, CDCl_3 , δ ppm): 7.41-7.26(10H, m), 5.91-5.62(4H, br. m, 由于重水的加入迁移), 4.50(4H, s), 3.56(4H, br. d, $J=4.9\text{Hz}$), 3.34(1H, m)

30

$^{13}\text{C-NMR}$ (68MHz, CDCl_3 , δ ppm): 164.7, 138.2, 128.2, 127.5, 127.4, 72.3, 68.3, 59.8

实施例 7

12,13-二氢-2,10-二苄氧基-6-N-(1-苄氧基甲基-2-苄氧基乙基氨基)-
13-(β -D-2,3,4,6-四-O-苄基吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]咔
唑-5,7(6H)-二酮的制备



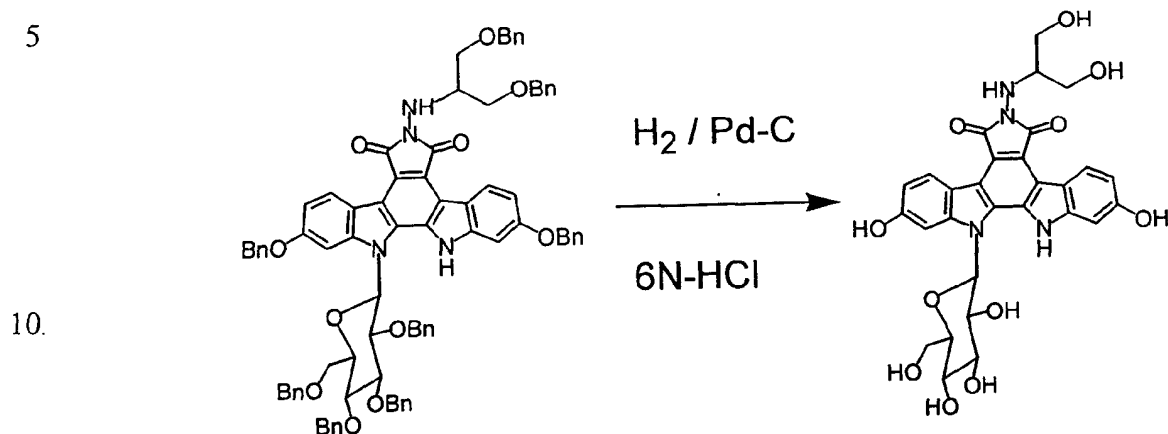
将实施例 1 得到的 12,13-二氢-2,10-二苄氧基-13-(β -D-2,3,4,6-四-O-
苄基吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]吡唑-5,6-二甲酸酐(1.00g,
0.94mmol)、N-(1-苄氧基甲基-2-苄氧基乙基)胍半草酸盐(398mg,
1.20mmol)和 N,N-二甲基乙酰胺(9.2ml)的混合物脱气,并且在通入氮气
15 之后加热至 62℃。向该溶液内滴加三乙胺(0.17mL, 1.20mmol),在该温
度下搅拌该混合物 3 小时并冷却至室温,加入甲基叔丁基醚(20mL)和
水(4.7mL)。用 1N 盐酸水溶液使水层达到 pH 4 并搅拌 20 分钟。分离
有机层,用水(6mL)洗涤 5 次,用硫酸钠干燥并过滤。最后,减压下浓
缩滤液得到所需的化合物(1.29g),其为粗品状态。

20 $^1\text{H-NMR}$ (270MHz, CDCl_3 , δ ppm): 10.63(1H, br. s), 9.24(1H, br. d, $J=9.6\text{Hz}$), 9.16(1H, br. d, $J=9.6\text{Hz}$), 7.50-6.84(42H, m), 6.20(2H, br. d, $J=7.6\text{Hz}$), 5.84(1H, d, $J=8.6\text{Hz}$), 5.33(1H, br. d, $J=3.0\text{Hz}$), 5.21(1H, d, $J=12.2\text{Hz}$), 5.19(1H, d, $J=11.9\text{Hz}$), 5.16(1H, d, $J=12.2\text{Hz}$), 5.08(1H, d, $J=11.9\text{Hz}$), 5.08(1H, d, $J=10.9\text{Hz}$), 4.96(1H, d, $J=10.9\text{Hz}$), 4.89(1H, d, $J=10.9\text{Hz}$), 4.85(1H, d, $J=10.9\text{Hz}$), 4.72(1H, d, $J=12.9\text{Hz}$), 4.68(1H, d, $J=12.9\text{Hz}$), 4.62-4.48(4H, m), 4.33(1H, dd, $J=9.6, 9.6\text{Hz}$), 4.06-3.77(7H, m), 3.72(4H, d, $J=5.6\text{Hz}$), 3.04(1H, d, $J=9.9\text{Hz}$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (68MHz, CDCl_3 , δ ppm): 168.8, 168.7, 159.4, 159.3, 143.2, 142.9, 138.0, 137.9, 137.6, 136.9, 136.8, 136.6, 136.0, 130.2, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 127.4, 127.3, 126.9, 126.6, 119.4, 119.1, 118.0, 116.9, 116.7, 116.1, 110.4, 96.7, 96.3, 85.8, 84.7, 80.9, 77.4, 77.2, 76.0, 75.9, 75.4, 74.9, 73.9, 73.3, 73.2, 70.7, 70.4, 69.9, 69.8, 66.7, 58.7, 49.4, 30.9, 27.0

实施例 8

12,13-二氢-2,10-二羟基-6-N-(1-羟甲基-2-羟乙基氨基)-13-(β-D-吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]呋唑-5,7(6H)-二酮的制备

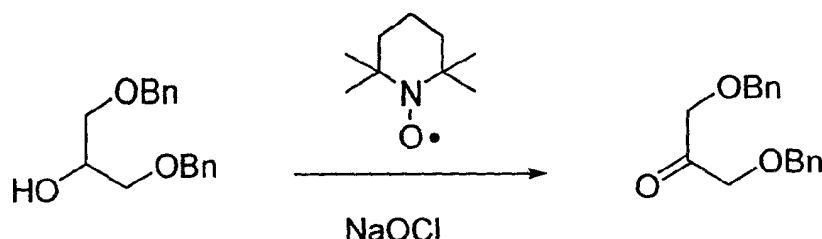


将实施例 7 得到的 12,13-二氢-2,10-二苄氧基-6-N-(1-苄氧基甲基-2-苄氧基乙基氨基)-13-(β-D-2,3,4,6-四-O-苄基吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]呋唑-5,7(6H)-二酮(600mg)与乙醇/四氢呋喃(50/50)混合溶剂置于氢化装置中，确定溶解之后，加入 10%碳载钯(120mg)和 6N 盐酸(120μL)。用氢气置换 (replacement) 三次后，使氢气压力固定在 29.4 帕斯卡并使内温为 40℃，搅拌该混合物 3 小时。过滤出碳载钯之后，加入三丁基膦(360μL)，搅拌该混合物 5 分钟，加入纯水(824μL)和庚烷(40mL)，并且分离形成的两层。浓缩水层至 824μL 以便蒸馏除去溶剂，在搅拌下逐渐滴加甲醇(5.5mL)。将所得的混悬液(无定形沉积)加热至 90℃并回流 9 小时，冷却至室温并搅拌过夜。过滤该混悬液得到黄色结晶(175mg；收率 64%)。由于与实施例 3 的所需化合物的质谱、红外吸收光谱和核磁共振光谱相吻合，本实施例所获得的化合物被鉴定为 12,13-二氢-2,10-二羟基-6-N-(1-羟甲基-2-羟乙基氨基)-13-(β-D-吡喃葡萄糖基)-5H-吲哚并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]呋唑-5,7(6H)-二酮。

实施例 9

1,3-二苄氧基丙酮的制备

30



5

在氮气流下将 1,3-二苄氧基-2-丙醇(100.0g, 367mmol)、乙腈(1352mL)和 2,2,6,6-四甲基-1-哌啶基氧自由基(5.74g, 36.7mmol)置于安置有机械搅拌器和温度计的 5000mL 四颈烧瓶中, 并且搅拌该混合物 5 分钟。此后, 加入 3%碳酸氢钠水溶液(1,028g, 367mmol)并用冰浴冷却该混合物至 1.1℃。在 2 小时以上的时间内向该混合物内加入 11.9%次氯酸钠水溶液(当滴定市售的 10%次氯酸钠水溶液时, 精确浓度为 11.9%) (276g, 441mmol)同时使该混合物的温度保持在 5℃或 5℃以下(该反应略微放热), 并且在 0.5℃-2.0℃下搅拌该混合物 1 小时。向反应混合物中加入甲基叔丁基醚(2,700mL), 搅拌该混合物 20 分钟同时使温度保持在 10℃或更低温度下, 并且静置 10 分钟, 分离形成的两层(水层为 1,289g 且其 pH 为 8)。所得的有机层依次用 10%亚硫酸钠水溶液(330g)、5% 盐水(200g)和 20% 盐水(200g)洗涤。通过高效液相色谱分析所得的溶液(3,130g), 结果得到 91.8g(收率 93%)的标题 1,3-二苄氧基丙酮。

¹H-NMR(270MHz, CDCl₃, δppm): 7.35-7.26(m, 10H), 4.57(s, 4H), 4.24(s, 4H)

将该溶液在 5℃下储藏过夜。用 40℃的水浴在减压下浓缩该溶液至 500mL, 加入庚烷(500mL), 在 40℃减压下浓缩该混合物至 500mL, 重复 2 次上述步骤, 加入庚烷调整浓缩物的液体量至 500mL, 该混合物无需纯化用于下个步骤。

高效液相色谱的测定条件:

柱: Zorbax SB-CN

测定温度: 25℃

流动相: 0.1%pH 7 磷酸盐缓冲液-乙腈(T=0 分钟, 50:50 (T=15

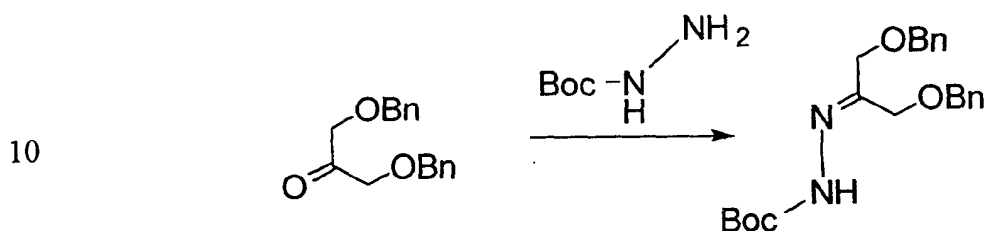
分钟, 流动相的组成: 50:50 (T=25 分钟, 流动相的组成: 5:95)。

流速: 1.0mL/分钟

检测波长: 220nm

5 实施例 10

1,3-二苄氧基丙酮叔丁氧基羰基脒的制备



15 将实施例 9 得到的混合物(91.8g, 335mmol)置于带有 Dimroth 冷凝器、机械搅拌器和温度计的 5,000mL 四颈烧瓶中, 加入庚烷(2,100mL)并搅拌该混合物。在 55℃下加热该混合物 30 分钟且在 15 分钟内加入肼基甲酸叔丁酯(63.09g, 477mmol)在甲苯(100mL)中的溶液。加热该混合物并在 70℃-75℃下搅拌 1 小时。在 30 分钟内使获得的反应混合物冷却至 60℃, 加入所需的 1,3-二苄氧基丙酮叔丁氧基羰基脒(50mg)作为晶种, 在该温度下搅拌该混合物 1 小时使晶体生长。令该混合物冷却至室温, 搅拌过夜并进一步冷却至 20℃。

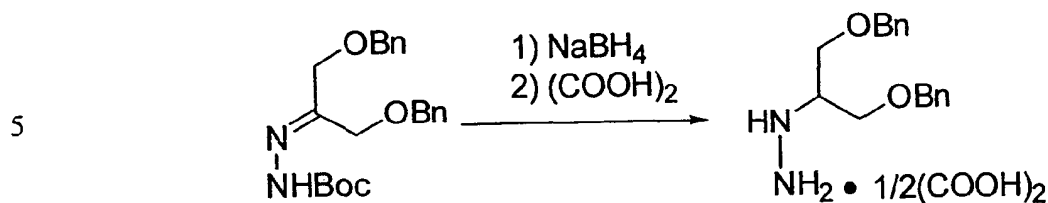
20

25 通过过滤从所得的混悬液得到结晶, 将该结晶依次用庚烷(300mL)、叔丁醇(250mL)、庚烷(300mL)和庚烷(300mL)洗涤并在 50℃下在减压和氮气流下干燥过夜, 得到所需的 1,3-二苄氧基丙酮叔丁氧基羰基脒, 其为无色结晶(120.2g; 由 1,3-二苄氧基-2-丙醇计收率 85.2%)。

$^1\text{H-NMR}$ (270MHz, CDCl_3 , δ ppm): 9.69 (br. s, 1H), 7.40-7.25 (m, 10H), 4.51 (s, 2H), 4.49 (s, 2H), 4.35 (s, 2H), 4.12 (s, 2H)

实施例 11

1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基-胍基丙烷半草酸盐的制备



在氮气氛下将 1,3-二苄氧基丙酮叔丁氧基羰基胍(10.0g, 26.0mmol)
 置于带有磁搅拌器和温度计的 200mL 四颈烧瓶中并悬浮在乙醇(80mL)
 10 中。将该混合物加热至 65℃, 在 7 小时或更长时间内加入硼氢化钠(3.44g,
 91.0mmol)和 N,N-二甲基乙酰胺(57.3mL)的混合物同时保持在 65℃-68
 ℃下, 并且在 65℃-70℃下搅拌该混合物 4 小时。使所得的反应混合物
 冷却至室温, 搅拌过夜且进一步冷却至 0℃。在剧烈搅拌下将该溶液在
 50 分钟内倾入冷却至 0℃的 13%氯化铵水溶液(165g, 401mmol)中, 同
 15 时使温度保持在 5℃或更低温度。加入甲基叔丁基醚(275mL), 将该混
 合物充分混合, 分离所得的的两层, 所得的有机层用水(50mL)洗涤 4
 次并用 20% 盐水(50mL)洗涤并用无水硫酸钠干燥。通过高效液相色谱
 分析所得的有机层(455.1g), 结果证实生成 9.08g(收率 90%)的 1,3-二苄
 氧基-2-叔丁氧基羰基胍基丙烷。

20 高效液相色谱的测定条件:

柱: Zorbax SB-CN

测定温度: 25℃

流动相: 0.1% pH 7 磷酸盐缓冲液-乙腈(T=0 分钟, 50:50 (T=15
 25 分钟, 流动相的组成: 50:50 (T=25 分钟, 流动相的组成: 5:95)。

流速: 1.0mL/分钟

检测波长: 210nm

将如上获得的含 1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基胍基丙烷的溶液浓
 30 缩至干, 加入四氢呋喃(25mL)和 6N 盐酸(13mL, 78.0mmol), 并且将该

混合物加热至 60℃且搅拌 4 小时。停止加热，令该混合物冷却至室温并搅拌过夜。将所得的反应混合物在 5℃或更低温度下滴加到脱气的 7 %碳酸钠水溶液(123g, 85.8mmol)中。然后加入脱气的甲基叔丁基醚(300mL)，充分混合该混合物并分离所得的两层，有机层用水(20mL)洗涤 2 次且过滤，向所得的滤液中加入少量的 1,3-二苄氧基-2-胍基丙烷 1/2 草酸盐作为晶种，室温下在 1 小时内滴加草酸(1.17g, 13.0mmol)的甲醇(13mL)溶液，并且将该混合物搅拌过夜。通过过滤收集沉积的结晶并用甲基叔丁基醚洗涤。减压下将结晶干燥过夜得到所需的 1,3-二苄氧基-2-胍基丙烷 1/2 草酸盐(6.57g)，其为无色结晶。

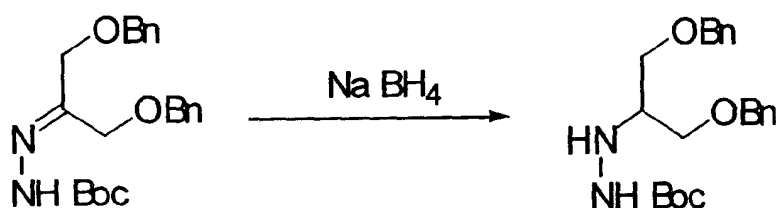
用天平取 5.92g 所得到的结晶并悬浮在乙醇(178mL)中，该混悬液在减压下脱气且置于氮气氛下。将该混悬液加热至 75℃得到均匀溶液，向该溶液加入少量的 1,3-二苄氧基-2-胍基丙烷 1/2 草酸盐作为晶种，同时使该溶液逐渐冷却至室温，沉积出结晶，室温下搅拌该混悬液过夜。将该混悬液冷却至 0℃并搅拌数小时，通过过滤收集结晶且用-10℃的乙醇洗涤。在室温和减压下干燥该结晶过夜，得到所需的 1,3-二苄氧基-2-胍基丙烷 1/2 草酸盐，其为无色结晶(5.36g; 由原料 1,3-二苄氧基丙酮叔丁氧基羰基胍计算收率为 68%)。

$^1\text{H-NMR}$ (270MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): 7.41-7.26 (m, 10H), 5.91-5.62 (br. m, 4H, 由于重水的加入迁移), 4.50 (s, 4H), 3.56 (br. d, $J=4.9\text{Hz}$, 4H), 3.34 (m, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (68MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): 164.7, 138.2, 128.2, 127.5, 127.4, 72.3, 68.3, 59.8

实施例 12

1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基胍基丙烷的制备



在氮气氛围下将 1,3-二苄氧基丙酮叔丁氧基羰基脒(2.00g, 5.20mmol)和硼氢化钠(1.18g, 31.2mmol)置于带有磁搅拌器和温度计的 30mL 茄形烧瓶内, 并悬浮在乙醇(8mL)中。加热该混悬液至 65℃并搅拌 27 小时。

5 冷却该混悬液至室温, 搅拌过夜并进一步冷却至 0℃。在剧烈搅拌下将该溶液倾入冷却至 0℃的 13%氯化铵水溶液(60g, 149mmol)中, 同时使温度保持在 5℃或更低温度。用甲基叔丁基醚提取该混合物, 用水(50mL)洗涤所得的有机层并用 20%盐水(50mL)洗涤, 用无水硫酸钠干燥。通过高效液相色谱分析所得的有机层(128.59g), 结果证实生成 1.91g(收率 95%)的 1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基脒基丙烷。

10

高效液相色谱的测定条件:

柱: Zorbax SB-CN

测定温度: 25℃

15 流动相: 0.1% pH 7 磷酸盐缓冲液-乙腈(T=0 分钟, 50:50 (T=15 分钟, 流动相的组成: 50:50 (T=25 分钟, 流动相的组成: 5:95)。

流速: 1.0mL/分钟

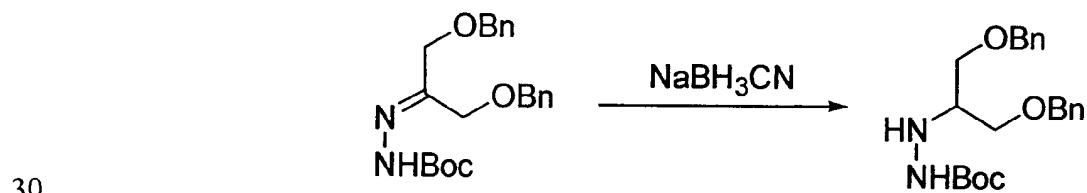
检测波长: 220nm

20 $^1\text{H-NMR}$ (270MHz, CDCl_3 , δ ppm): 7.36-7.26 (m, 10H), 6.05 (br. s, 1H), 4.54 (d, $J=12.2\text{Hz}$, 2H), 4.48 (d, $J=12.2\text{Hz}$, 2H), 4.54 (br. s, 1H), 3.59-3.47 (m, 4H), 3.39 (m, 1H), 1.44 (s, 9H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (68MHz, CDCl_3 , δ ppm): 156.5, 138.1, 128.3, 127.7, 127.6, 80.3, 77.2, 73.2, 69.3, 58.9, 28.3

25 实施例 13

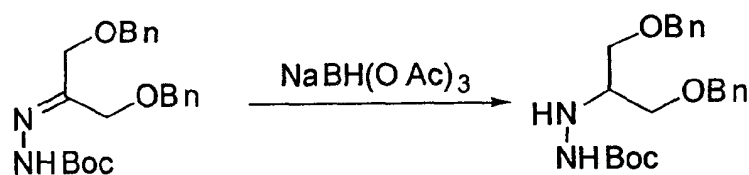
1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基-脒基丙烷的制备



在氮气氛围下将 1,3-二苄氧基丙酮叔丁氧基羰基脒(2.00g, 5.20mmol)和氰基硼氢化钠(344mg, 5.20mmol)置于带有磁搅拌器和温度计的 50mL 四颈烧瓶中, 并悬浮在四氢呋喃(10.4mL)中。在 2.5 小时内向该混合物中加入对甲苯磺酸一水合物(989mg, 5.20mmol)在四氢呋喃(5.2mL)中的溶液, 同时保持在 28℃或更低温度下。室温下搅拌该混合物 1 小时并冷却至 0℃, 加入 1N 氢氧化钠水溶液(10.4mL, 10.4mmol)同时保持在 10℃或更低温度下(放热)。用甲基叔丁基醚提取该混合物, 所得的有机层依次用 13%氯化铵水溶液、水和 20%盐水洗涤且用无水硫酸钠干燥。通过高效液相色谱, 按照与实施例 12 相同的方式分析所得的有机层(131.44g), 结果证实生成 1.76g(收率 88%)的 1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基脒基丙烷。

实施例 14

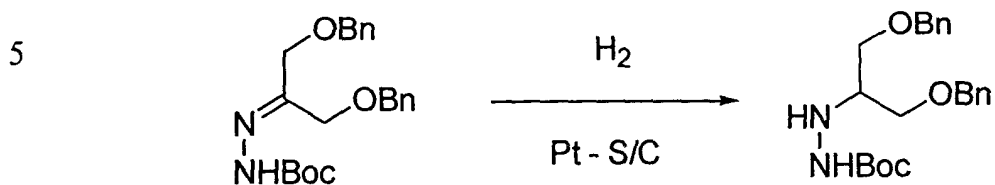
1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基-脒基丙烷的制备



在氮气氛围下将 1,3-二苄氧基丙酮叔丁氧基羰基脒(2.00g, 5.20mmol)和三乙酰氧基硼氢化钠(1.83g, 5.20mmol)置于带有磁搅拌器和温度计的 50mL 三颈烧瓶中, 并悬浮在四氢呋喃(15mL)中。在 4 小时内向该混合物中加入对甲苯磺酸一水合物(989mg, 5.20mmol)在四氢呋喃(5.2mL)中的溶液, 同时保持在 27℃或更低温度下。室温下搅拌该混合物过夜并冷却至 0℃, 加入 1N 氢氧化钠水溶液(30.2mL, 30.2mmol)同时保持在 10℃或更低温度下(放热)。用甲基叔丁基醚提取该混合物, 所得的有机层依次用 13%氯化铵水溶液、水和 20%盐水洗涤并用无水硫酸钠干燥。通过高效液相色谱, 按照与实施例 12 相同的方式分析所得的有机层(138.66g), 结果证实生成了 1.55g(收率 77%)的 1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基脒基丙烷。

实施例 15

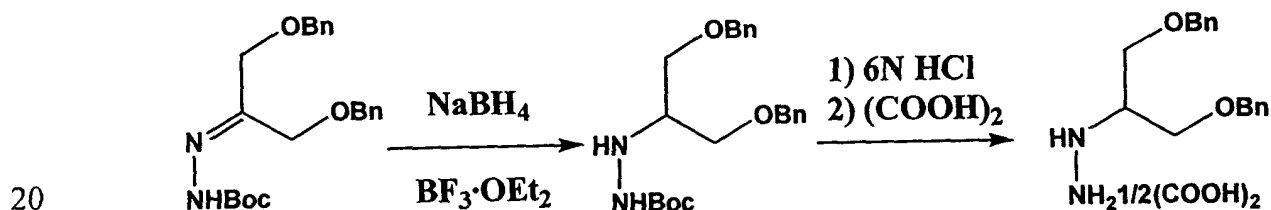
1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基肼基丙烷的制备



10 在氮气氛下使 1,3-二苄氧基丙酮叔丁氧基羰基肼(500mg, 1.30mmol)和 3%Pt-硫/炭粉(423mg, 0.065mmol)悬浮在 30mL 茄形烧瓶内的四氢呋喃(6.5mL)中, 该烧瓶带有磁搅拌器和温度计, 在室温下在氢气氛下搅拌该混合物过夜。将烧瓶中的内部气体更换为氮气, 过滤出催化剂, 通过高效液相色谱, 按照与实施例 12 相同的方式分析滤液, 结果证实生成 309mg(收率 61%)的 1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基肼基丙烷。

15 实施例 16

1,3-二苄氧基-2-肼基丙烷半草酸盐的制备



25 将 NaBH_4 (2.21g, 58.4mmol)置于 500mL 四颈烧瓶中并悬浮在四氢呋喃(40mL)中。使该混悬液达到 0°C , 在 10°C 或更低温度下逐渐加入 1,3-二苄氧基丙酮叔丁氧基羰基肼(10.0g, 26.0mmol)在四氢呋喃(30mL)中的溶液, 用四氢呋喃(10mL)洗涤该容器。在 15 分钟(等于或小于 10°C)内分次加入三氟化硼乙醚络合物(4.94mL, 39.0mmol)并在 $1.5-5^\circ\text{C}$ 下搅拌该混合物 1 小时。

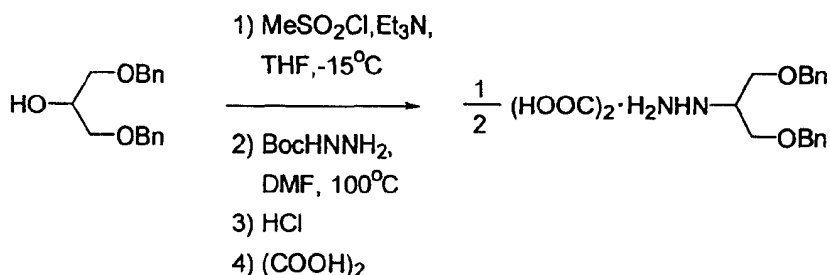
30 在 30 分钟(20°C 或更低温度)内向所得的反应混合物中分次加入 6N 盐酸(23.8mL, 143mmol)并在 $60-63^\circ\text{C}$ 下搅拌该混合物 3.5 小时, 随后在

室温下搅拌 14 小时。将所得的反应混合物冷却至 10℃，加入脱气的 2N 氢氧化钠溶液(78.0mL, 156mmol)，撤去冷却浴，搅拌该混合物 10 分钟。将该混合物转移到分液漏斗中并用脱气的甲基叔丁基醚(240mL)提取。有机层依次用水(40mL)、10% 盐水(20mL)和水(40mL)洗涤，并且通过加入甲基叔丁基醚使有机层达到 350mL。

向有机层中加入 10mg 的 1,3-二苄氧基-2-胍基丙烷半草酸盐作为晶种并分次加入草酸(928mg, 10.3mmol)在甲基叔丁基醚(10mL)中的溶液。室温下搅拌该混合物 30 分钟，加入草酸(93mg, 1.03mmol)在甲基叔丁基醚(1.0mL)中的溶液，并在室温下继续搅拌该混合物 14 小时。过滤生成的结晶，用甲基叔丁基醚(50mL)洗涤并再次用甲基叔丁基醚(25mL)洗涤。所得的结晶在减压下干燥得到无色结晶(6.88g, 收率 80%)。该结晶的物理化学数据符合实施例 11 中得到的 1,3-二苄氧基-2-胍基丙烷 1/2 草酸盐的数据。

实施例 17

1,3-二苄氧基-2-胍基丙烷半草酸盐的制备



在氮气流下将 1,3-二苄氧基-2-丙醇 (2.0g, 7.34mmol)、四氢呋喃(19mL)和三乙胺(3.07mL, 22.0mmol)置于带有磁搅拌器和温度计的 50mL 三颈烧瓶中，并将该混合物冷却至-30℃。在 10 分钟内加入甲烷磺酰氯(2.27mL, 29.3mmol)同时保持在-25℃或更低温度下，在-30℃至-25℃下搅拌该混合物 30 分钟。在剧烈搅拌下将所得的反应混合物倾入冷却至 0℃的 1N 盐酸(11mL)和甲基叔丁基醚的混合物中。分离形成的

两层，并且依次用 1N 盐酸(3.5mL)(2 次)、水(3.5mL)(2 次)和 20% 盐水(7mL)洗涤有机层并用无水硫酸钠干燥，在减压下浓缩得到浅棕色油状物质(3.57g)。

- 5 将所得的油状物质转移到 20mL 茄形烧瓶中并溶解在二甲基甲酰胺(2.75mL)中，加入胍基甲酸叔丁酯(6.79g, 51.4mmol)，并且加热该混合物至 100℃。在此温度下搅拌该混合物 79 小时，冷却至室温并在剧烈搅拌下倾入水(10mL)和甲基叔丁基醚的混合物中。分离形成的两层，并且用水洗涤有机层 3 次并用无水硫酸钠干燥。通过高效液体色谱，
- 10 按照与实施例 12 相同的方式分析所得的有机层(77.39g)，结果证实形成了 1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基胍基丙烷(893mg, 收率 31%)。

- 15 将如此所得的 1,3-二苄氧基-2-叔丁氧基羰基胍基丙烷浓缩至干，加入四氢呋喃(30mL)和 6N 盐酸(9.8mL, 58.7mmol)，将该混合物加热至 60℃并搅拌 3.5 小时。停止加热，令该混合物冷却至室温，搅拌过夜。将所得的反应混合物滴加到 10%碳酸钠水溶液(68.5g, 64.6mmol)中。该混合物用甲基叔丁基醚(100mL X 2)提取，并且合并的有机层用 5% 盐水(20mL)洗涤 2 次且用无水硫酸钠干燥。

- 20 在 1 小时内在室温下向有机层中滴加草酸(146mg, 1.62mmol)在甲醇(1.62mL)中的溶液，由此沉积出结晶。搅拌该混合物过夜。通过过滤收集结晶，用甲基叔丁基醚洗涤并在减压下干燥过夜，得到所需的 1,3-二苄氧基-2-胍基丙烷半草酸盐，其为无色结晶(544mg)。所得的结晶悬浮在乙醇(13.6mL)中，将该混悬液在减压下脱气并处于氮气氛下。将该混悬液加热至 75℃得到均匀溶液，向该溶液加入少量的 1,3-二苄氧基-2-胍基丙烷半草酸盐，同时使该溶液逐渐冷却至室温，由此沉积出结晶。
- 25 该混悬液在室温下搅拌过夜，冷却至 0℃并搅拌 2 小时，通过过滤收集结晶并用-10℃的乙醇洗涤。该结晶在室温和减压下干燥过夜，得到无色结晶(474mg; 由原料 1,3-二苄氧基-2-丙醇计算收率 19%)。该结晶的物理性质数据符合实施例 11 中得到的 1,3-二苄氧基-2-胍基丙烷半草酸
- 30

盐的那些数据。

工业实用性

5 通过本发明的制备方法，可以安全且容易地制备在医药领域中用作癌症治疗剂的化合物。